

A DOPAMIN ÉS A SZEROTONIN RENDSZER PROMOTER POLIMORFIZMUSAINAK MOLEKULÁRIS BIOLÓGIÁJA ÉS PSZICHOGENETIKAI VONATKOZÁSAI

A KUTATÁS SORÁN ELÉRT EREDMÉNYEK RÖVID ÖSSZEGZÉSE

A pszichogenetika és a molekuláris genetikai kutatások robbanásszerű fejlődése mellett nem várható el egy 5 évvel ezelőtt megfogalmazott munkaterv pontos megvalósítása. Ennek ellenére **az eredetileg megfogalmazott 5 feladatból 4-et (kibővítve) teljesítettünk, 1-et az újabb szakirodalmi adatok ismeretében módosítottunk.** A megvalósítás során számos, közlésre alkalmas eredményt kaptunk: **9 megjelent és 1 elfogadott angol nyelvű közlemény (1-10), 3 angol nyelvű kézirat (11-13) és 5 közlemény hazai folyóiratban.**

Emellett egyik munkatársunk nemcsak sikeresen védte meg **Ph.D. disszertációját** a témakörből, de sikeres munkája eredményeképp (külföldi tanulmányútját követően) felvételt nyert intézetünkbe. Továbbá több, **új – hazai és nemzetközi - kollaboráció** jött létre a projekt művelése során. Ezek közül kiemelkedő az NIH-FIRCA (2007-2010, P.I. Sasvári M) magyar-amerikai projekt.

AZ ELVÉGZETT MUNKA ÖSSZEVETÉSE A SZERZŐDÉSBEN RÖGZÍTETT FELADATOKKAL

1. Feladat: A munka elvégzéséhez szükséges etikai engedély beszerzése és az adatformátumok kialakítása – teljesítve

Etikai engedély kérelmünket a vizsgálat 1. évében az ETT-TUKEB jóváhagyta.

Az internetes adatbázis formátumok kialakítása a projekt 1. évben megtörtént, a következő 2 évben igen jelentős mennyiségű pszichológiai és genetikai adatot vittünk be az adatbázisba, a felmerülő technikai problémákat folyamatosan javítottuk. A javítások során felmerült, hogy az adatbázis formátumot alapvetően kellene megváltoztatni, ezért létrehoztunk egy újonnan programozott adatbázis felületet, mely többszörös ellenőrzés után az előzőnél alkalmasabbnak bizonyult az adatok kezelése szempontjából, ugyanis lehetővé tette a **felhasználóbarát, folyamatos adatbevitelt és a statisztikai programcsomagokkal kompatibilis adatexportálást.**

2. Feladat: A vizsgálati személyek pszichológiai jellemzése kérdőíves és reakcióvizsgálati módszerekkel. DNS mintavétel, a személyek kódolása - teljesítve

A kidolgozott kódolási rendszer a személyek számára biztosította az anonimitást, a száknyalukahártya mintavétele nem okozott problémát a résztvevőknek, és elegendő DNS-t szolgáltatott munkánkhoz.

A szerződésben foglalt, kognitív feladatok adatfelvétele a szerződésben meghatározott ütem szerint folyt. Ezen kívül újabb elemekkel is kiegészült ki a pszichológiai adatfelvétel az aktuális szakirodalom és a parallel klinikai kutatások során

felvetődött eredmények alapján. Irodalmi eredmények motiválták a **hipnabilitás** mérését, mely a figyelmi funkciók egy sajátos megnyilvánulása. Ezen felül a kérdőíves battériát kiegészítettük a GVOP által 2005-2007-ben támogatott projekt **depresszió és szorongásmérő kérdőíveivel** (Beck, HADS) is, mivel érdekes összefüggést kaptunk egy új polimorfizmus, a P2RX7 és a HADS szorongás és depresszió mérőszámai vonatkozásában. A tervezettnél szélesebb körű pszichológiai vizsgálatot az igen jól használható internetes adatfelvételi rendszer tette lehetővé.

3. Feladat: A kandidáns génpolimorfizmusok vizsgálata - teljesítve

A kutatás 3. évében befejeztük a szerződésben rögzített polimorfizmusok (dopamin rendszer: DRD4 120 bp dup, -616 C/G SNP, -521 C/T SNP, 48 bp VNTR, szerotonin rendszer: SERT 5-HTTLPR) meghatározását. A továbbiakban **újabb polimorfizmusokkal egészítettük ki a genetikai vizsgálatokat** (dopamin rendszer: DAT, COMT, DRD2, szerotonin rendszer: SERT StIn2, MAO-A, 5HTR1 valamint egy új target gén: P2RX7). A genetikai munka bővítését új, költség-hatékony genotipizáló módszerek bevezetése, valamint a molekuláris genetikai munka árának csökkenése tette lehetővé.

4. Feladat: A promoter polimorfizmusok funkcionális vizsgálata I. DNS-fehérje kölcsönhatás vizsgálatok - módosítva

Korábbi vizsgálatainkban a DRD4 promoter 120 bp duplikációjának vonatkozásában kimutattuk, hogy a genetikai variánsoknak megfelelő DNS fragmentumok fehérje kötése eltérő (14,15). A jelent projekt 4. feladatának eredeti célja az volt, hogy hasonló jellegű vizsgálatokat végezzünk a többi, funkcionálisan eltérő promoter variánsra is. Az 5. pont alatt leírt módszerekkel azonban nem sikerült eltérő expressziós aktivitást kimutatni a DRD4 promoter -521 CT, -616 CG és -615 AG SNP-k vonatkozásában. Így nem volt értelme megvizsgálni ezen polimorfizmusok hatását a DNS-fehérje kölcsönhatás vonatkozásában.

Alternatív vizsgálatként elkezdtünk egy, a szakirodalomban újonnan megjelent polimorfizmus típus, az úgynevezett **génszám polimorfizmus (gene copy number variations, CNV)** vizsgálatát.

5. Feladat: A promoter polimorfizmusok funkcionális vizsgálata II. A promoter variánsok aktivitás mérése riporter rendszerben - teljesítve

A szerződésben foglaltaknak megfelelően meghatároztuk a promoter variánsok *in vitro* transzkripció aktivitását humán neuroblasztoma sejtvoalakba transzfektált luciferáz riporter rendszerekkel. A 120 bp duplikáció esetében csendesítő hatást mutattunk ki, melynek mértéke attól függött, hogy a kromoszómális régió ennek a szekvenciának egy vagy több példányát tartalmazta. A -521 CT, -616 CG és -615 AG variánsok esetében azonban nem találtunk különbséget a mért *in vitro* transzkripció aktivitásban.

A szerződésben vállalt feladatokon kívül vizsgáltuk a DRD4 promoter régió szerepét a **DRD4 expresszió hipoxia függésének** vonatkozásában is.

A PROJEKT LEGFONTOSABB EREDMÉNYEI

Az alábbiakban azokat az eredményeket, melyeket **már publikáltunk (1-9)**, csak röviden mutatom be. Kicsit részletesebben térek ki a **közlésre beküldött és elfogadott, de még nem megjelent (10)**, illetve a **jelenleg kézirat formájában feldolgozott (11, 12, 13)** eredményekre.

1. A DRD4 promoter régió molekuláris és pszichogenetikai vizsgálata (1-7)

A projekt eredeti célkitűzésének megfelelően a vizsgálat középpontjában a DRD4 promoter régió állt. **A molekuláris biológiai és genetikai analízis számos eredményt szolgáltatott, melyek kivétel nélkül közlésre kerültek (1-7), így ezeket az eredményeket csak röviden foglalom össze.**

A DRD4 promoter régió polimorfizmusait több száz humán DNS-ben vizsgáltuk. Ezen vizsgálatok során felfedeztünk egy új variánst, egy 27 bp deléciót (1), de ez nagyon ritka volt, (5% alatt), így az asszociáció vizsgálatokhoz nem használtuk. Különböző eljárásokat dolgoztunk ki a promoter variánsok haplotípusainak meghatározására (2,3). A kapcsoltsági analízis során megállapítottuk, hogy a régió polimorfizmusai nem kapcsoltak (3,4). Ezen felül kimutattuk, hogy a DRD4 génexpresszió szabályozásában szerepet játszhat a hipoxia indukált faktor α (Hif1 α) is (5).

Részletesen foglalkoztunk a -521 CT SNP molekuláris biológiájával. Ennek oka az volt, hogy előzetesen összefüggést találtak a -521 CC genotípus és az újdonságkeresés személyiségjegye között egy japán vizsgálatban (16), mely eredményt mi is sikeresen megismételtük kaukázusi mintán (17). Azonban **nem találtunk különbséget a DRD4 promoter -521 C és T variánsok expresszió módosító hatásában in vitro riporter gén rendszert használva (6).**

A DRD4 promoterében lévő 120 bp egység duplikációjával kapcsolatban viszont pozitív eredményeket kaptunk. Előzetes irodalmi adatok alapján a 2-szeres ismétlődési forma lehet a figyelemhiányos hiperaktivitási zavar rizikófaktora (18,19), de ellentmondásos eredmények is születtek (20-22). Saját eredményeink valószínűsítik, hogy **a DRD4 promoter 120 bp duplikációjának rövid formája az ADHD egy lehetséges genetikai rizikófaktora (7).** Ezt molekuláris-funcionális vizsgálatokkal is alátámasztottuk: **bizonyítottuk a 120 bp régió transzkripció-csökkentő hatását in vitro rendszerben**, továbbá azt is, hogy **ez a hatás az ismétlések számának növelésével fokozódik (7).** Hasonló eredményekre jutottak D'Souza és munkatársai (23) is.

2. Egy új kandidáns gén a pszichogenetikában: a P2RX7 ioncsatorna

A P2RX7 ioncsatorna idegrendszerben betöltött szerepére teljes genom-asszociációs vizsgálatok során derült fény. A 12-es kromoszómán található 12q23-24 régió reprodukálhatóan asszociálódott a bipoláris depresszió (24, 25) és a major depresszió előfordulásához (26). A kandidáns kromoszómális régió finom vizsgálata során pontosított lokalizáció (12Q24.31) hamarosan elvezetett a depresszió és a szorongás új kandidáns génjéhez, a P2RX7 ioncsatornához (27). Ezt az eredményt erősítették meg azok a vizsgálataink, ahol szignifikáns összefüggést állapítottunk meg a P2RX7 gén Gln460Arg polimorfizmusa és a depresszió, illetve a szorongás kvantitatíven mérhető értékei között. **Ez volt a szakirodalomban az első olyan eredmény, mely a P2RX7 polimorfizmusa és egy**

hangulati állapotjelző szignifikáns összefüggését írta le (8). Ugyanakkor nem találtunk kapcsolatot a P2RX7 polimorfizmus és a mért kognitív paraméterek közt. Ezek az eredmények végeredményben alátámasztják eredeti megfigyelésünket: a P2RX7 ritka variánsok elsősorban a hangulati rendellenességek rizikófaktoraként szerepelhetnek.

3. A gén kópiaszám polimorfizmus (CNV) pszichogenetikai vonatkozásai (9,11).

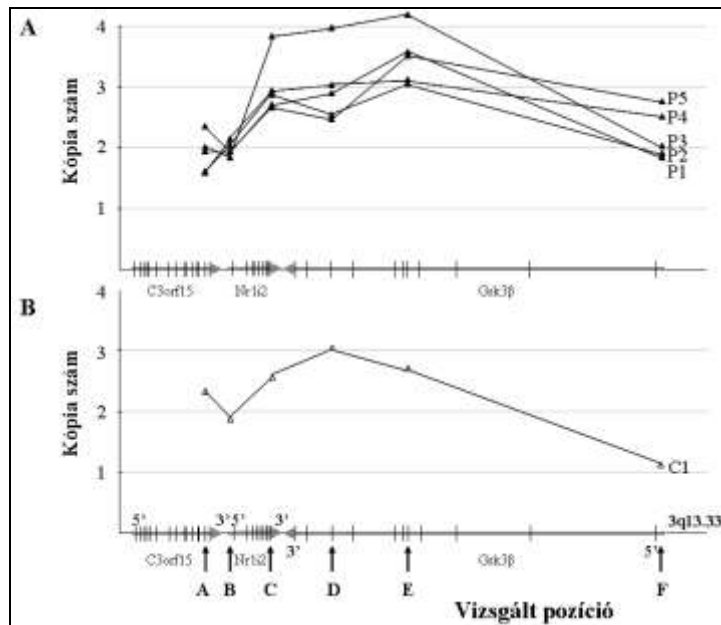
Egy diploid organizmusban, mint például az ember, legtöbbször minden génből 2 példány van a szomatikus sejtekben. A közelmúltban azonban leírták, hogy meglepően gyakori a kisebb-nagyobb génrégiók duplikálódása, átrendeződése, esetleg kiesése az átlagos populációban (28). Így az SNP-k és a rövid szakaszok ismétlődési polimorfizmusa mellett **egy harmadik típusú polimorfizmus kutatása kezdődött el. Ezt CNV-nek (copy number variation) vagy CNP-nek (copy number polymorphism), esetleg gén dózissnak nevezik.** Előzetes munkáinkban mi is foglalkoztunk a komplement C4A és C4B gének számának meghatározásával (29,30). A jelen munka keretében többféle módszert dolgoztunk ki a CNV mérésére, és ezeket alkalmaztuk a tanulmányozott kandidáns gének számának meghatározására. **A dopaminerg – szerotonerg rendszer kandidáns génjei közt azonban nem találtunk olyat, melynek génszáma variábilis lenne.** Ugyanakkor a közelmúltban megjelent a glikongén szintetáz kináz 3béta (GSK3 β) génszám variációjáról egy közlemény, mely szerint a normális génszámnál magasabb vagy alacsonyabb érték bipoláris depresszióra hajlamosít (31). Ezért **kidogoztunk egy valós idejű PCR módszert, és egy kapilláris elektroforézisen alapuló génszámlálást a GSK3 β génszám meghatározására (9).** Eredményeink szerint ritka a gén amplifikációja, és magába foglalja a szomszédos Nr1i2 gént is (lásd 1. táblázat).

		Kópia szám = 2	Kópia szám >2
Gsk3 β	Eset	97.7% (216)	2.3% (5)
	Kontrol	99.4% (179)	0.6% (1)
Nr1i2	Eset	97.7% (216)	2.3% (5)
	Kontrol	99.4% (179)	0.6% (1)

1. táblázat. GSK3 β /Nr1i2 génszám variációk (CNV) depressziós betegeknél (eset) és a kontroll csoportban (11)

Az 1. táblázatban összefoglalt eredmények alapján a GSK3 β /Nr1i2 gének amplifikációja ritka esemény: ahogy az 1. táblázat is mutatja, betegeknél összesen 5 esetben (2.3%), a kontroll populációban 1 esetben (0.6 %) találtunk génduplikációt. Ez a különbség statisztikailag nem szignifikáns. Fontos megjegyezni, hogy a két gén ellentétes irányú (lásd 1. ábra vízszintes tengelye). Ezért feltettük azt a kérdés is, hogy vajon a GSK3 β gén amplifikálódása nem részleges-e? Ezt további próbasorozatokkal határoztuk meg, és az eredményeket az 1. ábra mutatja. Eredményeink alapján a megduplázódott régió hossza a különböző személyeknél eltérő, azaz nem minden esetben működőképes az amplifikált gén. Pl. a P1,P2,P3 és a C1 jelű DNS mintákban a GSK3 β 5' régiója már nem esik bele az amplifikálódott szakaszba, azaz a második gén promoter nélküli. Mindez azt mutatja, hogy

egy adott próbára kapott magasabb jel még nem bizonyítja a vizsgált gén funkcionális egységének amplifikációját, így a CNV-k asszociációvizsgálatánál nagyon fontos a funkcionális vizsgálat. Másik érdekes következtetésünk, hogy az amplifikációt érintő terület különböző személyeknél különböző mértékű lehet – ennek pontos meghatározása elég sok munkát igényel.



1. ábra. Az amplifikálódott kromoszómális régió térképezése TaqMan próbákkal 5 depressziós betegben (A) és egy kontroll (B) személyben (11)

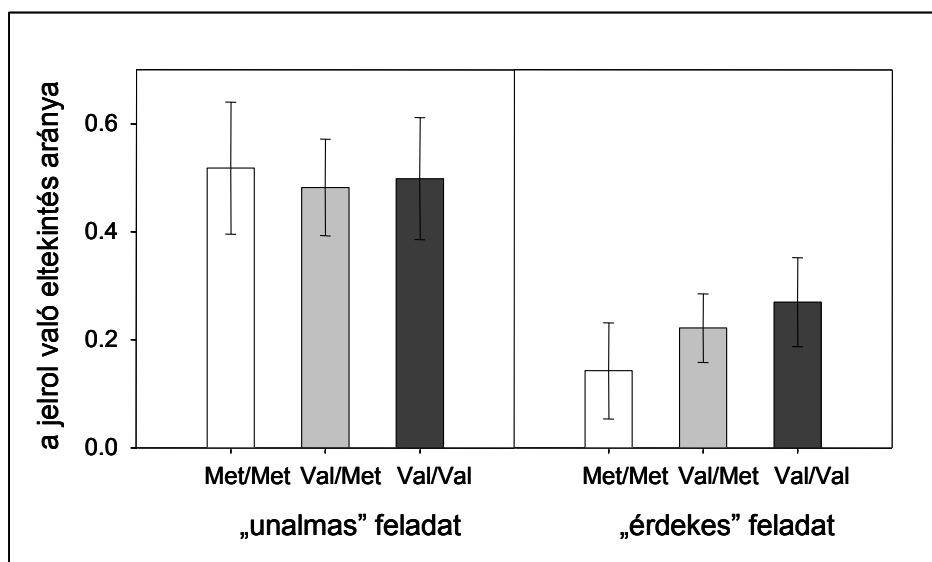
Összegezve megállapíthatjuk, hogy a vizsgált kandidáns gének közül egyedül a GSK3 β gén esetében találtunk esetenkénti genduplikációt, ez azonban ritka jelenség (5% alatt következik be), és az amplifikált régió különböző méretű lehet. Mivel az esetek többségében a megduplázódás nem érinti a teljes gént, a GSK3 β génszám variációk elméletileg nem függhetnek össze közvetlenül a betegség rizikójával. Ezzel egybehangzóan nem kaptunk szignifikáns összefüggést a génamplifikáció és a mért fenotípusos jegyek között.

4. COMT polimorfizmus és csecsemőkori figyelem (10)

A jelen projekt egyik legfontosabb célkitűzése a kognitív funkciók (figyelmi teljesítmény) pszichogenetikai elemzése volt. Ezt a kérdést a felnőttkori vizsgálatokon kívül (lásd alább) 9 hónapos csecsemők körében is vizsgáltuk, külföldi kollaboráció keretében.

Hazai viszonylatban hosszabb ideje kollaborálunk Dr. Gervai Judit (MTA Pszichológia Intézet) munkacsoportjával, akikkel a csecsemők kötődésének és viselkedésének genetikai alapját kerestük. Közös vizsgálataink mutattak rá a szakirodalomban úttörő jellegű megfigyelésre, hogy a kötődési viselkedés háttérében nemcsak az anya-gyermek szociális kapcsolata, hanem a dopamin D4-es receptor (DRD4) gén variabilitása is szerepet játszik (32,33). Elterjedt nézet szerint a humán temperamentumra gyakorolt genetikai hatások korai gyermekkorban és csecsemőkorban sokkal erősebbek, így a kis génhatások könnyebben mérhetők, amelyre például mi is leírtunk (34). Eredményeink alapján kereste meg munkacsoportunkat az **angliai kognitív fejlődéstani csoport (Centre for Brain and Cognitive Development, School of Psychology, Birkbeck College, University of London, UK)**, akik kognitív végrehajtó funkciókat vizsgálnak csecsemőkorban. Kollaborációs munkánk során a dopamin rendszer legfontosabb kandidáns génjeit (COMT, DAT, DRD2, DRD4) vizsgáltuk az angol csoport által vizsgált csecsemőkön.

Eredményeink azt mutatták, hogy a dopamin-bontó katechol-*O*-metiltranszferáz enzim (COMT) Val¹⁵⁸Met polimorfizmusa hatással bír 9 hónapos csecsemők figyelmére. (A COMT enzim a dopamint bontja, a 158Val allél magasabb, a Met allél alacsonyabb aktivitást kódol). **A Met/Met genotípusúak figyelme kevésbé volt elterelhető, mint a Val-alléllal rendelkezők a munkacsoport által kifejlesztett Freeze-Frame task „érdekes” jelet megjelenítő tesztje során** - kontrollként szerepelt az „unalmas” teszt, mely nem mutatott eltérést a 3-féle genotípus csoport között (2. ábra).

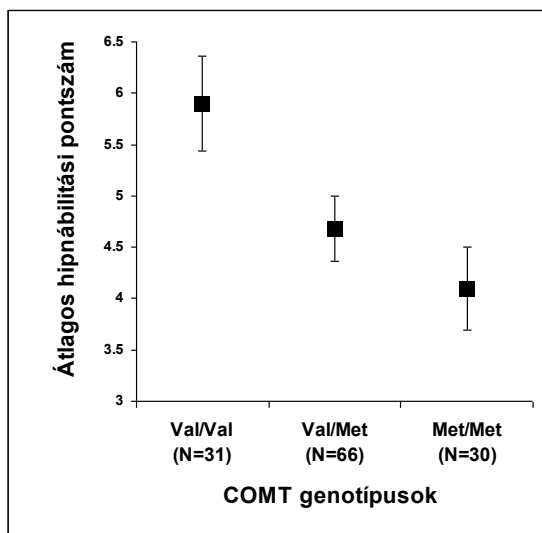


2. ábra. A COMT Val¹⁵⁸Met polimorfizmus hatása csecsemők kognitív teljesítményére (10)

Ez az eredmény jól összecseng az egészséges felnőtteken végzett genetikai vizsgálatok eredményeivel, ahol is az alacsonyabb aktivitású (így magasabb extracelluláris dopamin szintet eredményező) Met-variáns jobb kognitív teljesítménnyel hozták összefüggésbe (35,36), valamint az alábbi, saját vizsgálatainkkal is.

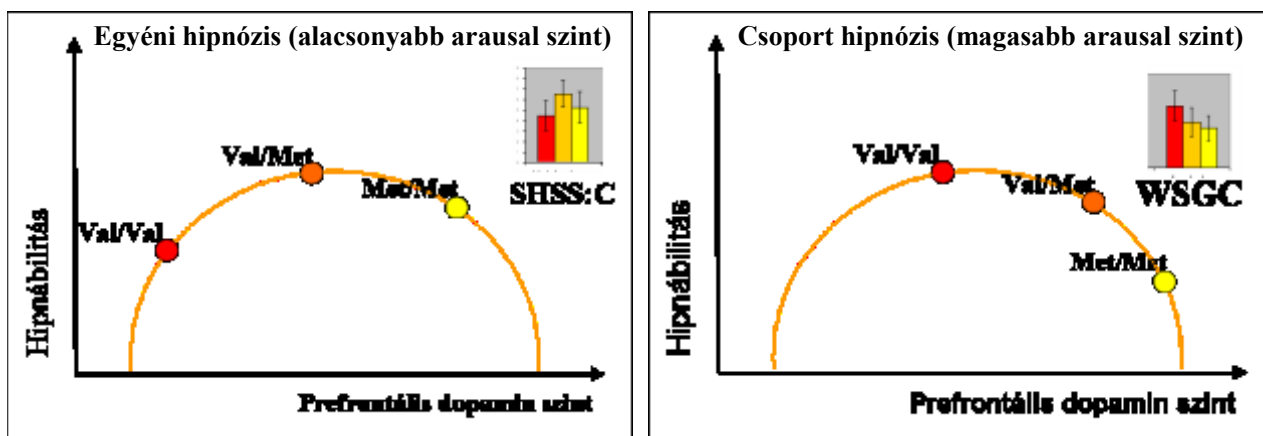
5. COMT polimorfizmus és hipnabilitás (12)

A hipnózis neuropszichofiziológiai elmélete (37) szerint a **hipnotikus fogékonyság egy olyan képesség, mely összefüggésben áll a kognitív figyelmi szűrés hatékonyságával.** Előzetesen szignifikáns összefüggést mutattak ki a hipnózis iránti fogékonyság és a COMT Val¹⁵⁸Met polimorfizmusa között (38-40). (A COMT enzim a dopamint bontja, a 158Val allél magasabb, a Met allél alacsonyabb aktivitást kódol). Érdeemes megjegyezni, hogy a COMT működése különösen fontos a prefrontális kéregben, ahol más dopamin bontó enzimek (pl. DAT) hiányában kiemelt szerepet kap a dopamin jel terminációjában.



3. ábra. A COMT genotípus és a hipnabilitás összefüggése (12)

Vizsgálatunkban 127 egészséges személy csoporthipnózis adatai alapján mi is **kimutattuk a COMT polimorfizmus és személyek hipnózis iránti fogékonysága között szignifikáns ($p = 0.016$) összefüggést.** Azonban a korábbi tanulmányok eredményeivel szemben, vizsgálatunkban a Val allél domináns hatást mutatott, így a Val/Val allélt hordozó személyek mutatták a legmagasabb fogékonyságot (lásd 3. ábra). A különbség valószínű oka az, hogy vizsgálatunkban a személyek csoportos hipnózis ülésen vettek részt, míg a szakirodalmi eredmények egyéni hipnózisra vonatkoznak.



4. ábra. A COMT genotípusok feltételezett működési modellje egyéni és csoport hipnózisban (12)

A kognitív funkciókhoz szükséges optimális prefrontális dopamin szint fontossága jól ismert (41). A dopamin szintjét számos tényező befolyásolja, így például az adott helyzetben megtapasztalt stressz mértéke is (42). Így feltételezhető, hogy egyéni hipnózis helyzetben (SHSS) az optimális dopamin szintet a Val/Met heterozigóta genotípus biztosítja (4. ábra/bal oldal). Ugyanakkor az általunk vizsgált csoport helyzetben (WSGC) egy fokozottabb arausal szint jön létre, és a Val/Met heterozigóta genotípus helyett a fokozottabb dopamin bontást biztosító Val/Val genotípusú személyek rendelkeznek optimális dopamin szinttel a hipnózis iránti fogékonysághoz (4. ábra/ jobb oldal).

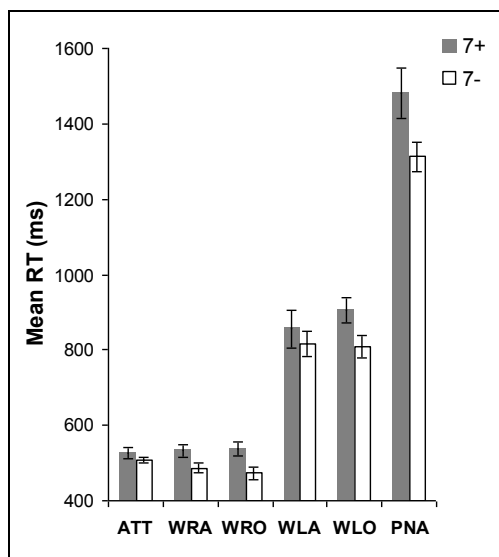
6. A hosszantartó figyelmi teljesítmény és a DRD4 „hosszú” allél kapcsolata (13)

A dopaminerg neurotranszmisszió génjei, köztük a dopamin D4-es recetor (DRD4), hosszú ideje áll a pszichogenetikai kutatások központjában. Az első ilyen vizsgálat ma már a pszichogenetika klasszikus eredménye, mely a DRD4 „hosszú” allélja és az újdonságkeresés közt talált összefüggést (43), azonban sokan kérdőjelezték meg ennek a hatásnak a reprodukálhatóságát. Saját korábbi eredményeink azt mutatták, hogy a DRD4 hosszú, vagy 7-es allél inkább a kitartás hiányával (44) jellemezhető, mely jól egyezik azzal a ténnyel, hogy a DRD4 allélok fontos szerepet játszanak a figyelemhiányos hiperaktivitási zavar (ADHD) kialakulásában (45), azonban az ezzel kapcsolatos eredmények ellentmondásosak (46).

A hosszantartó figyelmi képesség a kognitív pszichológiai kutatások egyik központi témája, melynek biológiai meghatározottsága általánosan elfogadott. Ez a képesség fontos szerepet kap mind gyermekkorban mind pedig felnőttkori kognitív zavarokban, így az ADHD-ben, illetve a kognitív teljesítmény időskori romlásában, mely összefügg a neurodegeneratív betegségek biológiai mechanizmusával. A DRD4 allélok szerepét az egészséges személyek figyelmi teljesítményében elsőként Fossella és munkatársai (47) vizsgálták, egy speciálisan erre a célra kifejlesztett teszttel. Ebben a feladatban a személynek a képernyőn megjelenő nyilak által jelzett irányra kellett gombnyomással reagálni. Eredményeikben csak gyenge asszociációkat sikerült kimutatni a vizsgált génvariánsok és a figyelmi teljesítmény egyes részfunkciói között, az összteljesítményt mérő reakcióidővel a DRD4 vagy más vizsgált polimorfizmus nem asszociált.

Egy igen hasonló feladatot alkalmazott D.A. Balota munkacsoportja (Washington University, St. Louis) egy figyelmi komponenseket felmérő feladat együttes részeként egészséges és Alzheimer kórban szenvedő személyek figyelmi teljesítményének mérésére (48). A jelen projektben átvettük ezt a figyelmi battériát, és irányításukkal magyar nyelvre standardizáltuk őket. Egy további, igen alaposan kidolgozott hosszantartó figyelmet igénylő kognitív reakcióidő feladat (49) standardizálásában vett részt kollaboráló pszichológus munkatársunk, Dr. Székely Anna, melynek során 7 nyelven mértek standard képmegnevezési teljesítményt (50) E. Bates vezetésével (UCSD, California, USA). A feladat során a képernyőn egymás után felvillanó képek nevét kell kiejteni, az eredmény pedig a kép megjelenésétől a kiejtésig tartó reakcióidő (RT, milisec=ms). A feladat nem nehéz, de hosszantartó, és koncentrált figyelmet igényel. A képmegnevezési feladat további változatai a szókiolvasás, illetve hallás utáni szóismétlés, melyben a feladat azonos (a célszó kiejtése), azonban az inger vizuális, illetve auditív.

Asszociáció-elemzésünkben a fentebb leírt különböző figyelmi összteljesítményt mérő reakcióidő feladatok és a dopaminerg polimorfizmusok között kerestünk összefüggést. **Eredményeink alapján valamennyi tesztben kimutatható a DRD4 7-es allél hatása: a hosszú alléllal rendelkezők figyelmi teljesítménye alacsonyabb (a feladatokban produkált átlagos reakcióidejük nagyobb) volt (lásd 5 ábra).**



5. ábra A DRD4 7-es allélt hordozók reakcióideje lassabb a hosszantartó figyelmi feladatokban (13)

Attention-test (ATT): Balota munkacsoportjának figyelmi feladata magyar nyelven
Word-Reading, Action (WRA): magyar nyelvre standardizált szókiolvasási feladat igékkel
Word-Reading, Object (WRO): magyar nyelvre standardizált szókiolvasási feladat tárgyakkal
Word-Listening, Action (WLA): magyar nyelvre standardizált szóismétlési feladat igékkel
Word-Listening, Object (WLO): magyar nyelvre standardizált szóismétlési feladat tárgyakkal
Picture-Naming, Action (PNA): magyar nyelvre standardizált képmegnevezési feladat igékkel

Kandidáns gén	Polimorfizmus		N	Az egyedi teljesítmény sebessége		Az egyedi teljesítmény variabilitása	
DRD4	exon III 48 bp VNTR	7+	84	0.30 (±1.05)	P=0.0001	0.13 (±0.95)	P=0.024
		7–	161	-0.19 (±0.87)		-0.14 (±0.93)	
	120 bp duplication	1+	63	-0.12 (±0.73)	P=0.307	-0.14 (±0.74)	P=0.347
		1–	171	0.02 (±1.03)		-0.02 (±1.01)	
	- 521 CT (rs1800955)	CC	43	-0.03 (±0.99)	P=0.953	-0.09 (±0.70)	P=0.862
		CT	115	-0.01 (±0.95)		-0.03 (±1.02)	
TT		63	0.02 (±0.95)	-0.05 (±1.02)			
DRD2/ ANKK1	TaqI (rs1800497)	A CC	104	-0.01 (±0.95)	P=0.567	-0.08 (±0.78)	P=0.437
		CT+TT*	54+1*	0.10 (±1.04)		0.07 (±1.18)	
	TaqI (rs1079597)	B AA+AG*	0+41*	0.14 (±0.97)	P=0.488	0.04 (±1.11)	P=0.720
		GG	114	0.01 (±1.00)		-0.03 (±0.89)	
	TaqI (rs1800498)	D CC	21	-0.04 (±1.12)	P=0.955	-0.24 (±0.74)	P=0.575
		CT	65	-0.02 (±0.99)		0.00 (±1.01)	
TT		48	-0.03 (±0.84)	0.04 (±0.86)			
COMT	Val158Met (rs4680)	AA	52	0.09 (±1.01)	P=0.763	0.06 (±1.00)	P=0.329
		AG	113	-0.03 (±0.94)		0.00 (±0.95)	
		GG	44	0.01 (±0.96)		-0.21 (±0.76)	
DAT1 (SLC6A3)	3'UTR 40 bp VNTR	9 9	20	0.13 (±1.03)	P=0.437	0.10 (±1.14)	P=0.687
		9 10	73	-0.13 (±0.88)		-0.09 (±0.88)	
		10 10	91	0.03 (±0.99)		-0.06 (±0.93)	

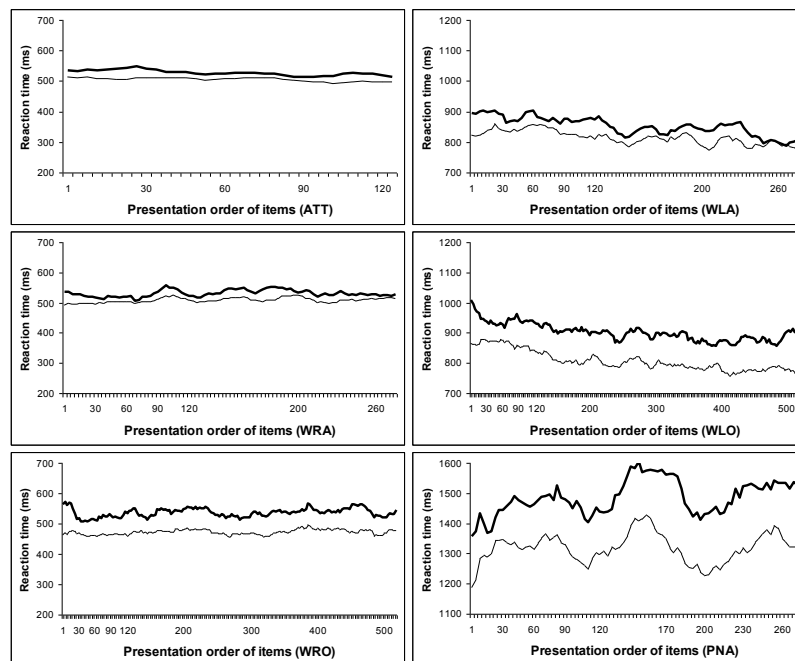
2. táblázat. A dopaminerg polimorfizmusok hatása a feladat-független figyelmi teljesítményre (13)

Az egyedi teljesítmény sebességét, illetve variabilitását jellemző mérőszámok átlagát (± szórását) tüntettük fel minden vizsgált genotípus csoportban. *A ritka genotípusokat összevontuk.

Még érdekesebb eredménynek tűnt az, hogy a hatféle feladat eredményei genetikai szempontból azonosak, és összevonhatók egy feladat-független változóként, mely a figyelmi teljesítmény sebességének általános mértéke. Eredményeink alapján **a feladat-független reakcióidő szignifikánsan ($P=0.0001$) nagyobb (azaz a figyelmi teljesítmény kisebb) a DRD4 7-es allél jelenlétében, míg a többi mért polimorfizmusnak nincs hatása (lásd 2. táblázat).** Ez a genetikai hatás akkor is szignifikáns marad, ha a meglehetősen szigorú Bonferoni korrekciók alkalmazzuk a többszörös tesztelés miatt ($p < 0.0032$).

Érdemes volt megvizsgálni azt is, hogy a figyelmi teljesítmény mennyire egyenletes a feladat során. Azaz könnyebben elfáradnak-e a DRD4 7-es alléllal rendelkezők, vagy a feladat teljes hosszúságában jellemző a rosszabb a figyelmi teljesítményük? Erre ad választ a 6. ábra, ahol a reakcióidő változását jelöljük a feladat során. Az ábra egyértelműen mutatja, hogy a **7-es alléllal rendelkezők csoportja (vastag vonal) a feladat során végig rosszabb teljesítményt (nagyobb reakcióidőt) produkálnak, mint a 7-es alléllal nem rendelkező társaik csoportja (vékony vonal).** Megállapítható még, hogy ezt a különbséget moderálja a feladat bonyolultsága: minél nehezebb az adott feladat (azaz mennél hosszabb ideig tart egy átlagos válsz), annál nagyobb a genetikai különbség ($r=0.46$, $p<0.01$). Meg kell azonban jegyezni, hogy valamennyi feladat elsősorban a figyelmi képességet méri, megoldásához nem szükséges különösebb tudás.

Kimutattuk továbbá, hogy a genetikai hatás nemtől független, ami azért érdekes, mert korábban beszámoltunk a „Kitartás” személyiségjegyre és a DRD4 7-es allél összefüggéséről, melyet csak férfiak esetében igazoltunk (44). Jelen eredményeink fényében valószínűnek tűnik, hogy a kérdőíves vizsgálatokban jelentős a szubjektív tényező (a nők kevésbé vallják be, ha nem kitartóak), így a jelen vizsgálatban alkalmazott, objektív mérőeszközök alkalmasabbnak tűnnek genetikai faktorok vizsgálatára.



6. ábra A DRD4 7-es allélt hordozók reakció-deficitje a feladat során változatlan (13)

Összefoglalva: létrehoztunk egy új endofenotípust, melynek genetikai hátterét a dopamin D4-es receptor adja, és amely többféle figyelmi tesztben azonos módon, kvantitatíven mérhető.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Szantai E, Szmola R, Sasvari-Szekely M, Guttman A, Ronai Z. The polymorphic nature of the human dopamine D4 receptor gene: A comparative analysis of known variants and a novel 27 bp deletion in the promoter region. *BMC Genetics* (2005) 6:39.
2. Szantai E, Ronai Z, Szilagyi A, Sasvari-Szekely M, Guttman A. Haplotyping by Capillary Electrophoresis *J Chromatogr A*. (2005) 1079:41–49.
3. Szantai E, Kiraly O, Nemoda Z, Kereszturi E, Csapo Z, Sasvari-Szekely M, Gervai J, Ronai Z. Linkage analysis and molecular haplotyping of the dopamine D4 receptor gene promoter region. *Psychiatric Genetics* (2005) 15: 259-270.
4. Toth-Petroczy A, Szilagyi A, Ronai Z, Sasvari-Szekely M, Guttman A. Validation of a tentative microsatellite marker for DRD4 gene by capillary gel electrophoresis. *J Chromatogr A*. 2006;1130(2):201-5.
5. Bence M, Kereszturi E, Mozes V, Sasvari-Szekely M, Keszler G. Hypoxia-induced transcription of dopamine D3 and D4 receptors in human neuroblastoma and astrocytoma cells. *BMC Neurosci*. (2009) 10(1):92.
6. Kereszturi E, Kiraly O, Barta C, Molnar N, Sasvari-Szekely M, Csapo Z. No direct effect of the -521 C/T polymorphism in the human dopamine D4 receptor gene promoter on transcriptional activity. *BMC Mol Biol*. (2006) 7:18.
7. Kereszturi E, Kiraly O, Csapo Z, Tarnok Z, Gadoros J, Sasvari-Szekely M and Nemoda Z Association between the 120-bp duplication of the Dopamine D4 Receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder: Genetic and Molecular Analyses. *Am J Med Genet B* (2007) 144(2):231-6.
8. Hejjas K, Szekely A, Domotor E, Halmai Z, Balogh G, Schilling B, Sarosi A, Faludi G, Sasvari-Szekely M, Nemoda Z. Association between depression and the Gln460Arg polymorphism of P2RX7 Gene: A dimensional approach. *Am J Med Genet B (Neuropsychiatr Genet)* (2009) 150:295-299.
9. Szantai E, Elek Z, Guttman A, Sasvari-Szekely M Candidate gene copy number analysis by PCR and multicapillary electrophoresis *Electrophoresis* (2009) 30, 1098-1101.
10. Holmboe, K., Nemoda, Z., Fearon, R. M. P., Csibra, G., Sasvari-Szekely, M., Johnson, M. H. (IF: Polymorphisms in dopamine system genes are associated with individual differences in attention in infancy. *Developmental Psychology*: *in press*
11. Szantai E, Kovacs-Nagy R, Elek Z, Faludi G, Ronai Z, Sasvari-Szekely M. Incomplete amplification of glycogen synthase kinase 3beta gene – a note to association studies. *Kézirat*
12. Szekely A, Kovacs-Nagy R, Bányai É, Gösi-Greguss A, Varga K, Halmai Z, Ronai Z, Sasvari-Szekely M. Association between hypnotic susceptibility and the catechol-o-methyltransferase (COMT) polymorphism The International Journal of Clinical and Experimental Hypnosis. *Beküldött kézirat*
13. Szekely A, Balota DA, Duchek JM, Ronai Z, Nemoda Z, Sasvari-Szekely M. Genetic factors of cognitive performance: Slower reaction time in multiple sustained attention tasks in the presence of the DRD4 7-repeat allele. *Kézirat*

14. Ronai Z, Wang Y, Khandurina J, Budworth P, Sasvari-Szekely M, Wang X, Guttman A. Transcription factor binding study by capillary zone electrophoretic mobility shift assay. *Electrophoresis*. 2003 Jan;24(1-2):96-100.
15. Ronai Z, Guttman A, Keszler G, Sasvari-Szekely M. Capillary electrophoresis study on DNA-protein complex formation in the polymorphic 5' upstream region of the dopamine D4 receptor (DRD4) gene. *Curr Med Chem*. 2004 Apr;11(8):1023-9.
16. Okuyama Y, Ishiguro H, Nankai M, Shibuya H, Watanabe A, Arinami T. Identification of a polymorphism in the promoter region of DRD4 associated with the human novelty seeking personality trait. *Mol Psychiatry*. 2000 Jan;5(1):64-9.
17. Ronai Z, Szekely A, Nemoda Z, Lakatos K, Gervai J, Staub M, Sasvari-Szekely M. Association between Novelty Seeking and the -521 C/T polymorphism in the promoter region of the DRD4 gene. *Mol Psychiatry*. 2001 Jan;6(1):35-8.
18. McCracken JT, Smalley SL, McGough JJ, Crawford L, Del'Homme M, Cantor RM, Liu A, Nelson SF. Evidence for linkage of a tandem duplication polymorphism upstream of the dopamine D4 receptor gene (DRD4) with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Mol Psychiatry*. 2000 Sep;5(5):531-6.
19. Barr CL, Wigg KG, Bloom S, Schachar R, Tannock R, Roberts W, Malone M, Kennedy JL. Further evidence from haplotype analysis for linkage of the dopamine D4 receptor gene and attention-deficit hyperactivity disorder. *Am J Med Genet*. 2000 Jun 12;96(3):262-7.
20. Todd RD, O'Malley KL. The dopamine receptor DRD4 gene: are duplications distracting? *Trends Pharmacol Sci*. 2001 Feb;22(2):55-6.
21. Mill J, Fisher N, Curran S, Richards S, Taylor E, Asherson P. Polymorphisms in the dopamine D4 receptor gene and attention-deficit hyperactivity disorder. *Neuroreport*. 2003 Aug 6;14(11):1463-6.
22. Brookes KJ, Xu X, Chen CK, Huang YS, Wu YY, Asherson P. No evidence for the association of DRD4 with ADHD in a Taiwanese population within-family study. *BMC Med Genet*. 2005 Sep 5;6:31.
23. D'Souza UM, Wang W, Gao DQ, Kanda S, Lee G, Junn E, Hwang CK, Jose PA, Mouradian MM. Characterization of the 5' flanking region of the rat D(3) dopamine receptor gene. *J Neurochem*. 2001 Mar;76(6):1736-44.
24. Morissette J, Villeneuve A, Bordeleau L, Rochette D, Laberge C, Gagne B, Laprise C, Bouchard G, Plante M, Gobeil L, Shink E, Weissenbach J, Barden N. Genome-wide search for linkage of bipolar affective disorders in a very large pedigree derived from a homogeneous population in Quebec points to a locus of major effect on chromosome 12q23-q24. *Am J Med Genet* 1999, 88:567-587.
25. Curtis D, Kalsi G, Brynjolfsson J, McInnis M, O'Neill J, Smyth C, Moloney E, Murphy P, McQuillin A, Petursson H, Gurling H. Genome scan of pedigrees multiply affected with bipolar disorder provides further support for the presence of a susceptibility locus on chromosome 12q23-q24, and suggests the presence of additional loci on 1p and 1q. *Psychiatr Genet* 2003, 13:77-84.

26. Abkevich V, Camp NJ, Hensel CH, Neff CD, Russell DL, Hughes DC, Plenk AM, Lowry MR, Richards RL, Carter C, Frech GC, Stone S, Rowe K, Chau CA, Cortado K, Hunt A, Luce K, O'Neil G, Poarch J, Potter J, Poulsen GH, Saxton H, Bernat-Sestak M, Thompson V, Gutin A, Skolnick MH, Shattuck D, Cannon-Albright L. Predisposition locus for major depression at chromosome 12q22–12q23.2. *Am J Hum Genet* 2003, 73: 1271–1281.
27. Lucae S, Salyakina D, Barden N, Harvey M, Gagne B, Labbe M, Binder EB, Uhr M, Paez-Pereda M, Sillaber I, Ising M, Bruckl T, Lieb R, Holsboer F, Muller-Myhsok B.. P2RX7, a gene coding for a purinergic ligandgated ion channel, is associated with major depressive disorder. *Hum Mol Genet* 2006, 15:2438–2445.
28. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shapero MH, Carson AR, Chen W, Cho EK, Dallaire S, Freeman JL, González JR, Gratacòs M, Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, MacDonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, Okamura K, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodwark C, Yang F, Zhang J, Zerjal T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, Estivill X, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW, Hurles ME. Global variation in copy number in the human genome. *Nature*. 2006 Nov 23;444(7118):444-54.
29. Szilagyi A, Blasko B, Ronai Z, Fust G, Sasvari-Szekely M, Guttman A. Rapid quantification of human complement component C4A and C4B genes by capillary gel electrophoresis. *Electrophoresis*. 2006 Apr;27(8):1437-43.
30. Szilagyi A, Blasko B, Szilassy D, Fust G, Sasvari-Szekely M, Ronai Z. Real-time PCR quantification of human complement C4A and C4B genes. *BMC Genet*. 2006 Jan 10;7:1.
31. Lachman HM, Pedrosa E, Petruolo OA, Cockerham M, Papolos A, Novak T, Papolos DF, Stopkova P. Increase in GSK3beta gene copy number variation in bipolar disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2007 Apr 5;144B(3):259-65.
32. Lakatos K, Toth I, Nemoda Z, Ney K, Sasvari-Szekely M, Gervai J. Dopamine D4 receptor (DRD4) gene polymorphism is associated with attachment disorganization in infants. *Mol Psychiatry*. 2000;5(6):633-7.
33. Gervai J, Nemoda Z, Lakatos K, Ronai Z, Toth I, Ney K, Sasvari-Szekely M. Transmission disequilibrium tests confirm the link between DRD4 gene polymorphism and infant attachment. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2005;132B(1):126-30.
34. Lakatos K, Nemoda Z, Birkas E, Ronai Z, Kovacs E, Ney K, Toth I, Sasvari-Szekely M, Gervai J. Association of D4 dopamine receptor gene and serotonin transporter promoter polymorphisms with infants' response to novelty. *Mol Psychiatry*. 2003;8(1):90-7.
35. Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS, Callicott JH, Mazzanti CM, Straub RE, Goldman D, Weinberger DR. Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(12):6917-22.
36. Sheldrick AJ, Krug A, Markov V, Leube D, Michel TM, Zerres K, Eggermann T, Kircher T. Effect of COMT val158met genotype on cognition and personality. *Eur Psychiatry*. 2008;23(6):385-9.

37. Crawford, H. J. Brain dynamics and hypnosis: attentional and disattentional processes. *Int J Clin Exp Hypn*, 1994, 42(3), 204-232.
38. Lichtenberg, P., Bachner-Melman, R., Ebstein, R. P., & Crawford, H. J. Hypnotic susceptibility: multidimensional relationships with Cloninger's Tridimensional Personality Questionnaire, COMT polymorphisms, absorption, and attentional characteristics. *Int J Clin Exp Hypn*, 2004, 52(1), 47-72.
39. Lichtenberg, P., Bachner-Melman, R., Gritsenko, I., & Ebstein, R. P. Exploratory association study between catechol-O-methyltransferase (COMT) high/low enzyme activity polymorphism and hypnotizability. *Am J Med Genet*, 2000, 96(6), 771-774.
40. Raz, A. Attention and hypnosis: neural substrates and genetic associations of two converging processes. *Int J Clin Exp Hypn*, 2005, 53(3), 237-258.
41. Tunbridge, E. M., Harrison, P. J., & Weinberger, D. R. Catechol-o-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond. *Biol Psychiatry*, 2006, 60(2), 141-151.
42. Thierry, A. M., Tassin, J. P., Blanc, G., & Glowinski, J. Selective activation of mesocortical DA system by stress. *Nature*, 1976, 263(5574), 242-244.
43. Ebstein RP, Novick O, Umansky R, Priel B, Osher Y, Blaine D, Bennett ER, Nemanov L, Katz M, Belmaker RH. Dopamine D4 receptor (D4DR) exon III polymorphism associated with the human personality trait of Novelty Seeking. *Nat Genet*, 1996, 12(1), 78-80.
44. Szekely, A., Ronai, Z., Nemoda, Z., Kolmann, G., Gervai, J., Sasvari-Szekely, M.. Human personality dimensions of persistence and harm avoidance associated with DRD4 and 5-HTTLPR polymorphisms. *Am J Med Genet Part B-Neuropsychiatric Genetics*, 2004, 126B(1), 106-110.
45. Faraone, S. V., Khan, S. A. Candidate gene studies of attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Clin Psychiatry*, 2006, 67 Suppl 8, 13-20.
46. Bellgrove, M. A., Mattingley, J. B. Molecular genetics of attention. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1129, 200-212.
47. Fossella J, Sommer T, Fan J, Wu Y, Swanson JM, Pfaff DW, Posner MI. Assessing the molecular genetics of attention networks. *BMC Neurosci*, 2002, 3, 14.
48. Castel, A. D., Balota, D. A., Hutchison, K. A., Logan, J. M., Yap, M. J. Spatial attention and response control in healthy younger and older adults and individuals with Alzheimer's disease: evidence for disproportionate selection impairments in the Simon task. *Neuropsychology*, 2007, 21(2), 170-182.
49. Szekely, A., D'Amico, S., Devescovi, A., Federmeier, K., Herron, D., Iyer, G., Jacobsen, T., Bates, E. Timed picture naming: Extended norms and validation against previous studies. *Behavior Research Methods Instruments & Computers*, 2003, 35(4), 621-633.
50. Bates, E., D'Amico, S., Jacobsen, T., Szekely, A., Andonova, E., Devescovi, A., Herron, D., Lu, C. C., Pechmann, T., Pleh, C., Wicha, N., Federmeier, K., Gerdjikova, I., Gutierrez, G., Hung, D., Hsu, J., Iyer, G., Kohnert, K., Mehotcheva, T., Orozco-Figueroa, A., Tzeng, A., Tzeng, O. Timed picture naming in seven languages. *Psychonomic Bulletin & Review*, 2003, 10(2), 344-380.